

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sapi Madura

Sapi Madura merupakan ternak asli Indonesia (*indigenous*) yang masih produktif di lingkungan aslinya yaitu di Pulau Madura. Sapi Madura tergolong sapi tropis yang kebanyakan dipelihara secara tradisional. Sapi Madura sebagai ras sapi domestik kedua di Indonesia setelah sapi Bali yang mengandung darah *Bos sondaicus* dan *Bos indicus*. Kombinasi darah tersebut menjadikan sapi Madura memiliki kemampuan untuk berkembangbiak dalam lingkungan dan iklim di Madura khususnya dan Indonesia pada umumnya (Prihartini, 2002).

Sapi Madura memiliki ciri khas yang menonjol sehingga dengan mudah dapat dibedakan dengan bangsa sapi lain. Baik jantan maupun betina berwarna merah bata dan hampir tidak ada bedanya antara kedua jenis kelamin. Paha bagian belakang berwarna putih, sedangkan kaki depan berwarna merah muda. Tanduk pendek dan beragam, ada yang melengkung seperti bulan sabit dan ada pula yang tumbuh agak ke samping dan ke atas. Tanduk pada betina kecil dan pendek (Sugeng, 1999).

Sapi Madura mempunyai karakteristik yang seragam baik dalam bentuk dan warna, dengan warna yang menonjol adalah coklat muda. Sapi ini merupakan hasil persilangan antara banteng piaraan (jinak) dengan Sapi Zebu. Mempunyai tulang yang bagus dan berotot, kaki dan teracak kuat untuk bekerja. Sapi jantan mempunyai punuk yang berkembangbiak, sedangkan pada sapi betinanya agak

kecil dan datar (Huitema, 1986). Gunawan (1993), menambahkan bahwa Sapi Madura mempunyai ciri-ciri berwarna kuning muda kecoklat-coklatan hingga merah. Moncong, kaki bagian bawah dan ekor berwarna lebih putih. Ujung ekor dan pinggir telinga mempunyai warna hitam. Secara keseluruhan warna Sapi Madura hampir sama dengan warna Sapi Bali. Sapi Madura jantan warna kulitnya tidak berubah meskipun umur bertambah tua, sedangkan pada Sapi Bali jantan warna tersebut akan berubah menjadi hitam jika umur bertambah tua. Sapi Madura betina umumnya memiliki warna yang hampir sama dengan Sapi Bali, namun pada Sapi Madura betina warna putih pada kaki bagian bawah dan pantat tidak begitu jelas seperti pada Sapi Bali. Pada Sapi Madura betina tidak dijumpai garis berwarna hitam dibagian punggungnya seperti yang dijumpai pada Sapi Bali. Sapi Madura dianggap sebagai ras sapi asli Indonesia yang telah terseleksi dan dipertahankan kemurniannya di Pulau Madura. Sapi Madura merupakan sapi potong lokal yang terbentuk sebagai akibat isolasi alam dan pengaruh lingkungan, sehingga mempunyai keseragaman karakteristik paling menonjol diantara sapi potong lokal lainnya di Indonesia karena Sapi Madura komposisi darah *Bos indicus*, maka memiliki sifat-sifat genetik yang khas yaitu tidak mudah stress karena iklim dan lingkungan yang keras dan mempunyai daya tahan yang kuat terhadap serangan penyakit caplak. Dengan sifat-sifat genetik dan seleksi alam lingkungan yang ketat dalam kurun waktu lama menjadikan Sapi Madura mempunyai daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan.

Menurut Hardjosubroto (1992), angka kelahiran Sapi Madura sebesar 46,96% dari total populasi induk atau 22,35% dari populasi. Umur pertama kali

dikawinkan pada sapi jantan adalah 2,6 tahun dan betina 2,0 tahun. Menurut Harmadji (1992), *sex ratio* Sapi Madura antara jantan dan betina yaitu 20,18% banding 79,82%. *Calving interval* Sapi Madura yang baik pada kisaran antara 12 sampai 14 bulan (14,12), umur sapi 4,19 bulan, *service per conception* sebesar 1,72. Menurut Soehadji (1992), *service per conception* Sapi Madura sebesar kurang lebih 2,0 dan persentase karkas mencapai 51,24% untuk sapi jantan dan 49,33% untuk sapi betinanya. Menurut Wiyono (1993), kadar hormon testosteron dari Sapi Madura jantan berkisar $3,78 \pm 2,15$ mg per mililiter darah, sedangkan kadar testosteron untuk sapi calon pejantan berkisar antara 3,68 sampai 6,88 mg per mililiter.

Sapi Madura mempunyai banyak fungsi di dalam sistem usaha tani di Pulau Madura, yaitu : (1) sebagai tenaga kerja dan sapi sonok untuk yang betina, (2) pemeliharaan sapi jantan umumnya diarahkan untuk tujuan sebagai pejantan yang akan mengawini sapi betina, sebagai sapi kerapian dan untuk penggemukan yang nantinya akan dijual sebagai sapi potong (Petheram, 1985).

Dalam Al-Quran surat Al-Mu'minun / 23 ayat 21 Allah SWT berfirman :

وَإِنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً ۚ نُسْقِيكُمْ مِمَّا فِي بُطُونِهَا وَلَكُمْ فِيهَا مَنَافِعُ كَثِيرَةٌ وَمِنْهَا تَأْكُلُونَ ﴿٢١﴾

Dan Sesungguhnya pada binatang-binatang ternak, benar-benar terdapat pelajaran yang penting bagi kamu, kami memberi minum kamu dari air susu yang ada dalam perutnya, dan (juga) pada binatang-binatang ternak itu terdapat faedah yang banyak untuk kamu, dan sebagian daripadanya kamu makan. (QS. Al-Mu'minun/23 : 21)

Dalam tafsir Fi Zhilalil Quran dijelaskan bahwa Al-An'am yaitu binatang ternak diantaranya unta, sapi dan domba. Masing-masing ciptaan tersebut telah

Allah bagi peran dan karakternya, dimana hal itu mengandung pelajaran bagi yang melihatnya dengan hati dan indra yang terbuka, serta mengambil hikmah dari ciptaan tersebut (Quthub. 1996). Bahkan Allah menjelaskan secara khusus tentang sapi di dalam Al-Quran dengan menjadikan surah tersendiri yaitu Al-Baqarah. Surah Al-Baqarah itu sendiri menjelaskan tentang kisah penyembelihan sapi betina yang diperintahkan Allah kepada Bani Israil. Allah memerintahkan kepada Bani Israil untuk menyembelih sapi betina yang tidak tua dan tidak muda, berwarna kuning tua, menyenangkan orang-orang yang melihatnya dan belum pernah dipakai untuk membajak tanah maupun mengairi tanaman, tidak bercacat dan tidak ada belangnya.

Kata Al-An'am sendiri memiliki hubungan erat dengan surat dalam Al-Quran yaitu surat Al-An'am. Surat ini termasuk surat Makkiyah karena hampir semua ayat-ayatnya diturunkan di Makkah. Surat ini menjelaskan tentang ternak yang oleh kaum muslimin dipergunakan untuk mendekatkan diri pada Tuhan mereka. Dalam surat ini juga disebutkan hukum-hukum yang berkenaan dengan binatang ternak (Depag).

2.2 Inseminasi Buatan

Pengembangan usaha peternakan sapi perah melalui IB dengan memanfaatkan semen pejantan unggul pada dasarnya adalah untuk memperbaiki mutu genetik ternak sehingga peningkatan kualitas dan kuantitas ternak dapat tercapai. Saat ini perkembangan peternakan secara keseluruhan di Indonesia masih banyak menghadapi kendali yang mengakibatkan produktifitas ternak

rendah. Menurut Hardjopranjoto (1995), laju peningkatan populasi ternak akan lebih cepat bila efisiensi reproduksinya lebih baik.

IB adalah pemasukan atau penyimpanan semen ke dalam saluran kelamin hewan betina dengan menggunakan alat-alat buatan oleh manusia. IB juga merupakan bioteknologi dalam pengembangbiakan ternak dan merupakan cara yang paling baik dan cepat untuk menyebarluaskan bibit unggul di suatu daerah (Toelihere, 1993).

IB pada sapi dapat dilaksanakan dengan tiga metode, yaitu : inseminasi vaginal, inseminasi servikal dan inseminasi rektovaginal. Inseminasi vaginal dilakukan dengan memasukkan pipa ke dalam vagina dan semen diposisikan pada mulut servik. Inseminasi servikal dilakukan dengan memasukkan spekulum steril ke dalam vagina dengan bantuan sumber cahaya dibagian kepala inseminator untuk memudahkan memasukkan alat ke dalam mulut servik. Inseminasi rektovaginal dilakukan dengan jalan memasukkan satu tangan yang bersarung tangan yang dilumuri zat pelicin ke dalam rektum sapi, kemudian alat inseminasi dimasukkan ke dalam vagina dengan bantuan tangan yang diarahkan ke servik. Metode rektovaginal memberikan angka konsepsi lebih tinggi dan volume semen yang dibutuhkan lebih sedikit. Namun cara ini memerlukan ketrampilan dan ketelitian yang tinggi (Hunter, 1995).

Ketepatan inseminasi mempunyai arti yang sangat penting serta pengamatan pada sapi yang intensif perlu dilakukan. Panjang siklus birahi sapi 17-21 hari, namun pada umumnya memperlihatkan gejala birahi hanya ± 18 jam. Sehingga pengamatan birahi untuk sapi hendaknya dilakukan 2 kali sehari yaitu pada pagi

dan sore hari dengan pengamatan birahi yang seksama sehingga tanda-tanda yang sederhanaupun akan terdeteksi (Toelihere, 1993).

Keberhasilan IB dengan penampungan, perlakuan dan pengolahan semen secara sempurna akan sia-sia apabila fase terakhir prosedur IB tidak dilaksanakan sebagaimana mestinya. Karena tujuan dari IB adalah membuat ternak bunting dan melahirkan pedet yang sehat dan unggul. Kebuntingan merupakan suatu proses yang didahului oleh fertilisasi yaitu suatu kejadian bergabungnya spermatozoa dan ovum menjadi zigot. Zigot akan mengalami pembelahan sehingga menjadi embrio, kemudian embrio ini mengalami implantasi pada endometrium uterus yang selanjutnya berkembang menjadi fetus (Hunter, 1995).

2.3 Spermatozoa

2.3.1 Pengertian Spermatozoa

Seekor ternak jantan memiliki fungsi alamiah untuk menghasilkan spermatozoa yang hidup dan potensial untuk membuahi ovum serta secara sempurna mampu meletakkannya ke dalam saluran kelamin betina. Semua proses fisiologis hewan jantan menunjang produksi dan kelangsungan hidup spermatozoa, baik secara langsung maupun tidak langsung (Toelihere, 1985).

Spermatozoa merupakan sel kecil, jompak dan sangat khas, tidak tumbuh atau membelah diri dan dihasilkan secara terus-menerus di dalam testis melalui suatu proses spermatogenesis dan mengalami pematangan lebih lanjut di dalam epididimis dimana sperma disimpan sampai ejakulasi (Lindsay, 1982). (Toelihere, 1985) menambahkan bahwa spermatozoa dibentuk dalam tubuli seminiferi yang

berada di dalam testis. Tubulus ini diberi rangkaian sel yang kompleks yaitu perkembangan atau pembelahan sel dari germinal sampai dengan terbentuknya spermatozoa atau gamet jantan.

Lindsay (1982), menyebutkan bahwa spermatozoa mempunyai fungsi untuk pembuahan ovum hewan betina. Bahan genetis dalam spermatozoa selain untuk pembuahan, juga terdapat sedikit makanan. Suatu pembungkus menutup kepala spermatozoa dan dibawahnya terdapat akrosom yang mengandung banyak *phospholipid*, sedangkan dibagian ekor dikelilingi seluruhnya oleh *fibril* yang lebih kasar. Membran *lipoprotein* membungkus permukaan spermatozoa.

Tentang semen, Allah SWT mengabadikan dalam Al-Quran Surat Al-Insan sebagai berikut

إِنَّا خَلَقْنَا الْإِنْسَانَ مِنْ نُطْفَةٍ أَمْشَاجٍ نَبْتَلِيهِ فَجَعَلْنَاهُ سَمِيعًا بَصِيرًا ﴿٢﴾

Sesungguhnya kami Telah menciptakan manusia dari setetes mani yang bercampur, yang kami hendak mengujinya (dengan perintah dan larangan), Karena itu kami jadikan dia mendengar dan Melihat (QS. Al-Insan/76 : 2).

Dalam QS. Al-Anbiya'/21, Allah menjelaskan lebih luas lagi tentang asal usul kehidupan sebagaimana firmanNya :

أَوَلَمْ يَرِ الَّذِينَ كَفَرُوا أَنَّ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ كَانَتَا رَتْقًا فَفَتَقْنَاهُمَا ۖ وَجَعَلْنَا مِنَ الْمَاءِ كُلَّ

شَيْءٍ حَيٍّ أَفَلَا يُؤْمِنُونَ ﴿٣٠﴾

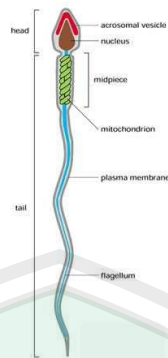
Dan apakah orang-orang yang kafir tidak mengetahui bahwasanya langit dan bumi itu keduanya dahulu adalah suatu yang padu, Kemudian kami pisahkan antara keduanya. dan dari air kami jadikan segala sesuatu yang hidup. Maka mengapakah mereka tiada juga beriman? (QS. Al-Anbiya'/21 : 30).

Ayat ini dengan jelas menunjukkan pandangan Islam mengenai asal usul kehidupan. Tidak ada keraguan sedikitpun bahwa semua kehidupan yang ada di dunia ini diciptakan dari air atas perintah Allah. Kemudian bersamaan dengan proses waktu, air berkembang menjadi bentuk dan rupa yang beraneka ragam sesuai dengan ketetapan hukum Allah. Air merupakan zat yang paling esensial dari seluruh kehidupan (Rahman, 2007).

2.3.2 Morfologi Spermatozoa

Spermatozo normal memiliki kepala, leher, badan, dan ekor. Bagian depan kepala tampak, sekitar 2/3 bagian tertutup oleh akrosom. Tempat sambungan dasar akrosom dan kepala disebut cincin nukleus. Antara kepala dan badan terdapat sambungan pendek yaitu leher dan berlanjut ke cincin sentriol. Bagian badan dan ekor mampu bergerak bebas meskipun tanpa kepala. Ekor membantu mendorong spermatozoa untuk bergerak maju (Salisbury, 1985).

Ukuran dan bentuk spermatozoa pada berbagai jenis hewan berbeda, namun struktur morfologinya sama. Panjang dan lebar kepala 8,0 – 10,0 mikron x 4,0 – 4,5 mikron, tebal kepala \pm 0,5 – 1,0 mikron, dan badan mempunyai panjang 1,5 – 2 kali panjang kepala dan berdiameter 1,0 mikron. Ekor spermatozoa panjang 35,0 – 45,0 mikron dan berdiameter 0,4 – 0,8 mikron (Toelihere, 1985).



Gambar 2.1
Spermatozoa dengan bagian-bagiannya (Yatim, 1996)

2.3.3 Konsentrasi Spermatozoa dan Membran Plasma Spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa per mililiter sangat penting karena hal itu sebagai kriteria penentuan kualitas semen dan menentukan derajat pengenceran (Hafez, 2000). Ihsan (1997) mengemukakan bahwa konsentrasi spermatozoa per ejakulasi pada sapi untuk standar minimum yang dapat dipakai untuk IB adalah 500 juta per mililiter dan 50 persen spermatozoa yang hidup dan motil.

Spermatozoa ditutup oleh membran sel dari kepala sampai ekor mempunyai susunan sangat kompleks baik komposisi molekulernya maupun secara fungsional. Membran spermatozoa masing-masing daerah mempunyai fungsi yang berbeda. Membran pada bagian kepala memegang peranan pada proses kapasitasi, reaksi akrosom, dan penembusan *zona pellucida* pada saat fertilisasi. Membran pada bagian ekor berfungsi untuk mendapat substrat untuk energi spermatozoa dan menghantarkan gelombang gerakan (Pedersen dan Fawcett, 1976).

Membran plasma spermatozoa berfungsi untuk pemeliharaan integritas membran dan membentuk permukaan yang dinamis antar sel serta sebagai perlindungan terhadap lingkungan. Membran plasma spermatozoa mengandung

asam lemak tidak jenuh dalam konsentrasi yang sangat tinggi dan berfungsi memberi fluiditas membran yang diperlukan untuk mendukung fungsi biologis (Purohit, Laloraya, dan Kumar, 1999).

Secara umum membran spermatozoa disusun oleh lipid (dua lapis fosfolipid), protein, glikoprotein, dan karbohidrat (glikokaliks) (Darnell *et al.*, 1990). Fosfolipid merupakan bagian integral membran spermatozoa yang berperan dalam permeabilitas membran, reaksi enzim yang terdapat pada membran, dan perubahan spermatozoa pada saluran reproduksi betina yaitu dalam proses kapasitas dan fertilisasi (White *et al.*, 1976). Pemberian fosfolipid esensial juga dapat memperbaiki metabolisme lipid (Bowyer dan Davies, 1979), oleh karena itu pemberian fosfolipid esensial akan dapat memperbaiki sintesis fosfolipid esensial pada membran, sehingga struktur dan fungsi membran menjadi optimal.

2.4 Karakteristik Semen

Semen sapi pada umumnya berwarna putih susu dan cenderung krem, meskipun beberapa sapi jantan menghasilkan semen yang berwarna kuning karena mengandung pigmen *riboflavin* yang dibawa oleh suatu gen *resesif autosomal* dan tidak mempengaruhi fertilitasnya (foote, 1986). Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi spermatozoa. Semakin keruh semen maka jumlah spermatozoa per mililiter semen semakin banyak (Partodihardjo, 1992). Volume semen sapi yang diejakulasi berbeda-beda menurut bangsa, umur, bobot badan, pakan dan frekuensi penampungan. Volume semen sapi bervariasi antara 5 sampai 8 mililiter tiap ejakulasi atau 1 sampai 12 mililiter. Volume semen

akan cenderung berkurang setelah mencapai puncak kedewasaan pada umur tertentu. pH rata-rata semen sapi berkisar 6,4 sampai 7,8 atau 6,8. Motilitas individu spermatozoa pada semen sapi berkisar 50 sampai 75 % (Garner dan Hafez, 2000 : Toelihere, 1993).

Penilaian konsentrasi spermatozoa tiap mililiter semen sangat penting, karena faktor ini dipakai sebagai kriteria penentu kualitas semen dan menentukan tingkat pengencerannya. Konsentrasi spermatozoa sapi bervariasi antara 700 sampai $1500 \cdot 10^6$ spermatozoa per mililiter (Ruppel dan Hill, 1982) atau 800 sampai $2000 \cdot 10^6$ spermatozoa per mililiter (Garner dan Hafez, 2000).

Konsistensi adalah derajat kekentalan yang erat kaitannya dengan konsentrasi spermatozoa. Semen sapi dengan konsistensi kental berwarna krem mempunyai konsentrasi 1000 sampai 2000 juta spermatozoa tiap mililiter. Konsistensi seperti susu encer mempunyai konsentrasi 500 sampai 600 juta spermatozoa tiap mililiter. Semen yang cair dan sedikit kekeruhannya mempunyai konsentrasi sekitar 100 juta spermatozoa tiap mililiter. Sedangkan yang jernih seperti air kelapa konsentrasinya lebih dari 50 spermatozoa per mililiter (Toelihere, 1993).

2.5 Semen Beku

Semen beku adalah semen yang telah diencerkan menurut prosedur dengan tujuan selain untuk menyediakan makanan bagi spermatozoa juga untuk meningkatkan volume dengan menurunkan konsentrasi semen sehingga didapat 25 juta sel spermatozoa dalam satu straw yang sebelumnya telah dilakukan pemeriksaan saat semen segar. Kemudian dibekukan jauh dari titik 0°C tergantung

pada zat yang dipakai untuk membekukan semen tersebut. Pembekuan bisa menggunakan es kering, cairan udara, O₂ cair, dan N₂ cair. N₂ cair yang paling populer digunakan sebab dapat membekukan pada suhu yang paling rendah dan dapat menyimpan semen dalam waktu yang lama. Kombinasi es kering dan kristal CO₂ dapat mencapai titik -70⁰ C, cairan N₂ suhunya -196⁰C, sedangkan CO₂ cair dan udara cair suhunya -190⁰C (Partodiharjo, 1992).

Model pengemasan semen beku yang biasa digunakan menurut Hafez (1993) yaitu :

1. *Straw* yang terbuat dari polivinil klorida, terdapat dua ukuran yaitu ministray yang berisi 0,25 ml, dan midistray yang berisi 0,5 ml semen.
2. Ampul gelas berisi 0,5 – 1 ml semen.
3. Pellet berisi 0,1 – 0,2 ml semen.

Umur dan daya guna semen yang dibekukan akan bertambah lam karena pembekuan adalah menghentikan sementara kegiatan hidup dari sel (metabolisme sel) tanpa mematikan fungsi sel dimana proses hidup dapat terus berlanjut setelah pembekuan dihentikan. Jadi, pada prinsipnya menggunakan faktor penurunan temperatur untuk mempertahankan daya hidup dan kemampuan fertilisasi spermatozoa (Partodiharjo, 1992).

2.5.1 Penampungan Semen

Beberapa cara penampungan semen sapi untuk tujuan IB telah berkembang, diantaranya dengan vagina buatan dan *elektro-ejakulator*. Penggunaan vagina buatan untuk menampung semen sapi telah dipakai secara luas. Pejantan akan

menaiki sapi betina pemancing dan akan berejakulasi pada waktu penis dimasukkan ke dalam vagina buatan. Vagina buatan terdiri dari silinder karet tebal dan keras, di dalamnya dilapisi silinder karet tipis dan merupakan kantung yang dapat di isi air panas. Salah satu ujung vagina buatan dipasang karet berbentuk corong untuk menampung semen. Vagina buatan yang telah di isi air panas dan dibagian dalam diberi pelicin, akan berfungsi untuk menampung semen (Salisbury, 1985).

Sterilisasi dalam pelaksanaan penampungan semen sangat diperlukan demi menjaga kebersihan semen. Perlakuan yang baik dan hati-hati terhadap pejantan diperlukan untuk memberikan rangsangan sebagai persiapan sebelumnya karena rangsangan ini akan dapat menaikkan kuantitas dan kualitas semen yang ditampung. Bila hewan pemancing tidak menimbulkan nafsu kawin bagi pejantan, maka hewan pemancing dan suasana lingkungan perlu diganti. Fasilitas yang cukup untuk menguasai pejantan dan hewan pemancing harus dilakukan supaya bahaya kecelakaan bagi penampung maupun bagi hewan itu sendiri dapat dihindari (Toelihere, 1985).

2.5.2 Evaluasi Semen

Pemeriksaan harus meliputi pengamatan terhadap gambaran keseluruhan contoh semen, volume, konsentrasi sel dan motilitas. Segera sesudah penampungan diadakan pemeriksaan umum terhadap ejakulat di dalam tabung penampungan. Pemeriksaan terdiri dari pengamatan terhadap warna dan

kekentalan semen, gelombang massa dan pencatatan semen dari sapi jantan yang bersangkutan dan penting untuk tujuan pengenceran (Salisbury, 1985).

Evaluasi semen terdiri dari uji makroskopis, mikroskopis, biokemis dan biologis. Uji yang rutin digunakan dalam suatu Balai Inseminasi Buatan (BIB) adalah uji makroskopis dan uji mikroskopis. Uji makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi dan bau. Volume semen dalam uji ini mencapai 2 – 10 ml, semen yang normal berwarna putih kekuningan, sedangkan yang abnormal berwarna kuning atau coklat, dan semen memiliki bau yang spesifik. Uji mikroskopis terdiri dari motilitas massa dan individu, viabilitas, konsentrasi dan abnormalitas (Hunter, 1982).

Allah juga telah menjelaskan dalam Al-Quran Surat An-Najm tentang kualitas Spermatozoa (semen) sebagai berikut :

مِنْ نُّطْفَةٍ إِذَا تُمْنَى ﴿١٦﴾

Menurut Yahya dalam Zulfan dijelaskan bahwasannya kalimat Nutfatin berarti semen. Cairan ini tersusun dari campuran berbagai cairan yang berlainan. Cairan-cairan ini mempunyai fungsi-fungsi semisal mengandung gula yang diperlukan untuk menyediakan energi bagi spermatozoa, menetralkan asam dipintu masuk rahim dan melicinkan lingkungan agar memudahkan pergerakan spermatozoa. Selain itu juga dijelaskan bahwa kata kalimat Tumna berarti dipancarkan menunjukkan semen yang memiliki kualitas baik, dengan daya gerak kuat dan mampu untuk membuahi sel telur.

2.5.3 Pengenceran dan Pendinginan Semen

Pengenceran semen memungkinkan IB sapi betina lebih banyak dan mempertahankan daya fertilisasi sebelum semen disemprotkan ke dalam alat kelamin betina pada waktu birahi. Bahan yang sering dipakai dalam pengenceran semen adalah kuning telur segar dan air susu yang telah dimasak. Semua persyaratan pengenceran harus dipenuhi terutama mengenai pengendalian kimiawi dan biologi yang terlibat dalam proses kehidupan spermatozoa, pada waktu fertilisasi, dan waktu implantasi (Salisbury, 1985).

Fungsi pengenceran semen adalah untuk memperbanyak volume, memberi media yang cocok untuk hidup spermatozoa, menjaga pH, tekanan osmotik dan sebagai perlindungan (krioprotektan). Pengenceran semen perlu menghindari adanya panas yang berlebihan, bahan kimia toxic, berhubungan dengan udara luar, sinar matahari langsung dan guncangan (Lindsay, 1982). Syarat utama pengencer adalah harus mengandung energi (gula sederhana : fruktosa, glukosa dan lain-lain), *buffer* atau penyangga (pH sekitar 6 – 8 (Tris, Na_2HCO_3 , Na_2HPO_4 , dan lain-lain)), isotonis (tekanan osmose di dalam sel sama dengan di luar sel), mineral, antibiotik (dosis pencegahan), tidak *toxic*, murah dan mudah disiapkan, memberikan kemungkinan untuk uji kualitas, serta mengandung *cryoprotectant* (Toelihere, 1993).

Menurut Partodihardjo (1992), pada pengenceran semen perlu diketahui asal mula dan syarat pengencer, pengencer harus dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia semen selama pendinginan. Pengencer merupakan media yang dapat

memenuhi kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa yang mempunyai fungsi memperbanyak volume semen, penyedia zat makanan dan bakteriostatik.

Pengencer semen yang digunakan dalam pengenceran tersebut biasanya menggunakan pengencer *Tris Aminomethan* kuning telur atau dengan menggunakan pengencer susu skim. Dari penelitian terdahulu Yudhaningsih (2004), disebutkan bahwa pengenceran menggunakan *Tris Aminomethan* kuning telur lebih baik dibandingkan menggunakan pengencer susu skim. Hal ini karena pengenceran semen dengan menggunakan pengencer *Tris Aminomethan* kuning telur mempunyai kelebihan pada penilaian secara mikroskopis sangat jelas karena tidak terdapat butir-butir lemak yang menyulitkan pemeriksaan, terdapat keseragaman kualitas produksi, daya tahan hidup dan motilitas spermatozoa sangat baik sehingga dapat meningkatkan angka kebuntingan (Zenichiro, 2002).

Teknik pengenceran semen menurut Zenichiro dkk (2005) adalah :

- a. Semen segar yang didapat bila telah memenuhi syarat untuk dibekukan kemudian diproses lebih lanjut (dengan motilitas $> 70\%$)
- b. Semen segar ditambah *diluter* A (pengencer yang ditentukan dengan volume sama dengan semen segar)
- c. Ditambah sisa pengencer A_2 pada suhu 12°C
- d. Pada suhu 5°C ditambahkan *diluter* B yang berisi *diluter* A + gliserol yang dibuat hingga total gliserol adalah 13% dari total *diluter*. Pendinginan pada semen dilakukan secara perlahan untuk menghindari *cold shock* (kejutan dingin).

2.5.4 Pembekuan Semen

Pembekuan merupakan pengeringan fisik. Jika suatu larutan dibekukan maka air sebagai pelarut membeku menjadi kristal es, sedangkan bahan terlarut tidak berbentuk kristal es, tetapi berkumpul dalam larutan yang masih ada dan bertambah pekat karena molekul air tergabung dengan kristal es.

Proses pembekuan semen meliputi *cooling* (pendinginan), *pre freezing* (pembekuan awal), dan *freezing* (pembekuan).

a. *Cooling* (pendinginan)

Cooling adalah proses pendinginan semen setelah proses pengenceran, dimasukkan dalam gelas ukur tertutup dan ditempatkan pada beaker glass berisi air. *Cooling* sampai 5°C dapat dilakukan dengan memasukkan tabung-tabung yang berisi semen yang telah diencerkan dalam bak yang berisi air. Bak tersebut kemudian dimasukan dalam refrigerator. Suhu air yang dipergunakan dalam *cooling* sesuai dengan suhu inkubasi semen segar yakni 37°C dan suhu 30°C (Lindsay, 1982).

b. *Pre freezing* (pembekuan awal)

Straw yang berisi semen diatur pada rak *straw* dan ditempatkan dalam uap N₂ cair sekitar 4,5 cm diatas permukaan nitrogen cair. Pembekuan ini berlangsung sekitar 10 menit, kemudian dimasukkan langsung ke dalam nitrogen cair (Toelihere, 1985)

c. *Freezing* (pembekuan)

Freezing merupakan proses penghentian sementara kegiatan hidup sel tanpa mematikan fungsi sel dan proses hidup dapat berlanjut setelah pembekuan

dihentikan. Sedangkan semen beku adalah semen yang telah diencerkan menurut prosedur lalu dibekukan di bawah suhu 0°C atau titik beku air (Partodiharjo, 1992).

Menurut Toelihere (1993), pembekuan dapat menggunakan CO_2 padat, udara basah, O_2 cair dan nitrogen cair. Pembekuan dengan N_2 cair lebih sering digunakan karena suhunya yang sangat rendah dapat menyimpan semen dalam jangka waktu yang lama. Pada proses ini *straw* direndam dengan suhu -196°C . Volume N_2 cair harus dikontrol secara periodik, karena jika kehabisan akan menaikkan suhu sehingga akan mematikan spermatozoa. Untuk menjamin kelangsungan hidup spermatozoa yang terkandung di dalam *straw* maka N_2 cair di dalam kontainer tidak boleh kurang dari ukuran minimal yang ditentukan yaitu setinggi 13,3 cm. Seandainya 13,3 cm, maka penambahan N_2 cair harus dilakukan segera dalam waktu 12 jam.

2.5.5 Pengemasan Semen

Setelah dilakukan pembekuan dengan penambahan gliserol, semen di masukkan ke dalam *straw*. *Straw* pada sapi biasanya berisi 25 juta sperma. Kemudian dilakukan equilibrasi di atas 10 cm nitrogen cair, dan di masukkan ke dalam N_2 cair dengan suhu -196°C (Toelihere, 1993).

Penyimpanan semen beku harus ditempatkan ke dalam kemasan yang tahan bocor. Satu ampul berukuran 1 ml sering digunakan untuk tujuan tersebut. Ampul yang dibuat dari gelas atau plastik tidak mempengaruhi kesuburan semen yang disimpan di dalamnya (Salisbury, 1985).

Toelihere (1985) menyatakan bahwa penyimpanan dalam bentuk *straw* dapat menghemat tempat, ringan, dan praktis untuk dibawa kemana-mana serta dapat dibuat berbagai warna dimana setiap warnanya untuk mengidentifikasi pejantan tertentu. Ukuran isi dari *straw* bermacam-macam akan tetapi dewasa ini yang banyak digunakan di Indonesia adalah *medium size straw* yang berisi 0,5 ml dan *mini size straw* berisi 0,25 ml semen.

Straw mempunyai beberapa warna dan kode pejantan, kode bull, dan kode bath. Adapun warna dan kode *straw* yang digunakan sebagaimana tabel berikut.

Tabel 2.1. Daftar warna dan kode *straw* yang biasa digunakan

No	Jenis Pejantan	Warna Straw	Code
1	Brahman	Biru Tua	A 206
2	FH	Abu-abu	A 207
3	Ongole	Biru muda	A 215
4	Bali	Merah	A 212
5	Madura	Hijau muda	A 220
6	Simental	Putih transparan	A 201
7	Limosin	Murah muda	A 210
8	Brangus	Hijau	A 211
9	Angus	Salmon	-
10	Taurindikus	Merang anggur	A 217

(Sudrajat, 2000).

Menurut Sudrajat (2000) dalam Nurmala Sari (2008), kode Bull adalah kode pejantan yang digunakan sebagai penghasil semen. Kode bull ditulis 6 angka, misalnya kode Bull pada tabel 5 di atas, adalah 160321 yang artinya adalah : 16 menunjukkan kode pejantan Madura, 03 menunjukkan tahun lahir pejantan yang digunakan adalah tahun 2003, dan 21 menunjukkan nomor urut pejantan tersebut di BIB.

2.6 Thawing

Untuk mempertahankan kehidupan spermatozoa maka semen beku harus selalu disimpan dalam bejana vakum atau kontainer berisi nitrogen cair yang bersuhu -196°C dan terus dipertahankan pada suhu tersebut sampai waktu dipakai. Semen beku yang akan dipakai, dikeluarkan dari kontainer dan dicairkan kembali (*Thawing*) supaya dapat disemprotkan ke dalam saluran kelamin betina. Sesudah *thawing*, semen beku merupakan barang rapuh dan tidak dapat tahan lama hidup seperti semen cair (*liquid semen, chilled semen*). Semen beku yang sudah dicairkan kembali tidak dapat dibekukan kembali. Oleh karena itu untuk menjamin fertilitas yang tinggi maka harus dipastikan bahwa semen yang sudah *dithawing* harus segera dipakai untuk IB (Toelihere, 1985).

Pencairan kembali semen beku dapat dilakukan dengan berbagai cara. Apapun cara *thawing* yang dilakukan, harus berpegang pada prinsip bahwa kurva peningkatan suhu semen harus menaik secara konstan sampai waktu IB.

Thawing dilakukan dengan mengambil semen beku yang berbentuk *straw* dari *container* yang berisi nitrogen cair, langsung dicelupkan dalam air hangat dengan suhu 37°C selama 15 detik. *Straw* kemudian dikeringkan dengan handuk atau tisu dan siap dipakai. Di Indonesia *thawing* dilakukan dengan air kran pada suhu 15°C – 25°C selama 15 detik (Iksan, 1992). Menurut Zenichiro dkk (2002) bahwa *thawing* dilakukan dengan merendam semen beku dengan air hangat dengan suhu 37°C – 38°C selama 7 detik dengan posisi sumbat pabrik dibagian bawah atau horizontal sehingga seluruh bagian semen terendam.

Handiwirawan (1997) dalam Nurmala Sari (2008) menjelaskan bahwa Semakin cepat perubahan suhu thawing dapat mengurangi tekanan spermatozoa dan melewati masa tidak stabil (kritis) dengan cepat, sehingga spermatozoa hidup dan normal lebih banyak. Lama pencelupan pada air thawing yang pendek memberikan spermatozoa yang hidup lebih maksimal. Suhu dan lama thawing mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa khususnya keutuhan spermatozoa dalam semen. Kombinasi suhu dan lama *thawing* yang baik adalah yang mengakibatkan sedikit kerusakan spermatozoa, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi ovum yang tinggi.

Di Jerman Barat bagian utara, thawing terhadap straw dilakukan pada air bersuhu 34°C selama 15 detik. Terhadap ampul digunakan air bersuhu 40°C selama 35 sampai 40 detik, ampul dikeluarkan dari air, dikeringkan dan dipanaskan dalam genggam tangan selama 35 sampai 40 detik. Pada saat tersebut suhu ampul akan mencapai 5°C. Pada pusat IB di Neustadt der Aisch, negara bagian Bayern, Jerman Barat bagian selatan, untuk *thawing* ampul malah tidak dimasukkan ke dalam air hangat. Ampul semen beku diambil dan ditaruh dalam kantong baju selama peternak menyiapkan sapi betina dan inseminator menyiapkan alat-alatnya. Sesudah siap, ampul diambil dan digosok-gosokkan antara kedua telapak tangan selama ± 1 menit barulah dipakai (Toelihere, 1993).

Roberts (1971) dalam Nurmala Sari (2008) menyatakan bahwa di Amerika Serikat, *thawing* biasanya dilakukan dengan memasukkan ampul atau *straw* ke dalam air es yang bersuhu 5°C selama 5 sampai 6 menit; semen beku dalam

bentuk pellet dicairkan di dalam pengencer air susu bersuhu kamar 35 sampai 40°C.

Pada pusat IB di Ungaran Jawa Tengah, thawing terhadap *straw* dilakukan dengan air kran dikatakan akan memberi hasil yang lebih memuaskan dari pada thawing memakai air es walaupun tidak diberikan beberapa lama jarak waktu thawing dengan pelaksanaan IB (Toelihere, 1993).

Menurut (Hafs, 1954 : Toelihere, 1993) dalam Nurmala Sari (2008) thawing pada air bersuhu 38°C sampai 40°C menghasilkan daya tahan hidup sperma yang lebih baik bila dibandingkan dengan pada suhu rendah. Sebaliknya VanDemark et al, dalam Toelihere (1993) menyatakan bahwa thawing pada suhu 5°C menghasilkan pergerakan yang lebih baik bila dibandingkan dengan thawing pada suhu 38°C.

2.7 Pengaruh Suhu dan Lama Thawing Terhadap Kualitas Spermatozoa

Kondisi akrosom yang normal jelas dipengaruhi oleh suhu dan lama thawing (Sahni dan Mohan, 1988). Menurut Lindsay, (1982), thawing spermatozoa dalam air bertemperatur 37°C menghasilkan lebih banyak spermatozoa dengan gerak maju dan total akrosom yang utuh dan tidak luka daripada melakukan thawing dalam temperatur 10°C. Sedangkan menurut Bhosrekar, Char, Patil dan Rangnekar (1984), melakukan thawing semen beku pada temperatur 40°C menghasilkan motilitas maju spermatozoa dan presentase akrosom yang normal lebih tinggi daripada melakukan thawing semen beku pada temperatur 5, 17 atau 21°C.

Berkenaan dengan suhu Allah SWT, berfirman dalam QS. Fathir/35 sebagai berikut :

وَلَا الظُّلُمَاتُ وَلَا النُّورُ ۖ وَلَا الظِّلُّ وَلَا الْحَرُورُ ۚ

Dan tidak (pula) sama gelap gulita dengan cahaya, Dan tidak (pula) sama yang teduh dengan yang panas (QS. Fathir/35 : 20-21).

Menurut Shihab (2002), Q.S Fathir ayat 20 menggunakan bentuk jamak untuk kalimat *الظلمات* dan bentuk tunggal untuk kalimat *النور* ini mengisyaratkan bahwa kegelapan bermacam-macam dan beranika ragam, sumbernya pun banyak. Sehingga kita harus mengkaji mengapa ada panas ada dingin, hal ini merupakan informasi bagi ilmu iklim atau klimatologi bahwa suhu itu dapat berbeda-beda menurut tempatnya. Suhu sangat bermakna bagi kehidupan manusia, hewan maupun tumbuhan. Pada proses *thawing* semen beku suhu sangat berperan dalam keutuhan spermatozoa.

Spermatozoa yang dapat hidup setelah *thawing* pada semen sapi, maksimum diperoleh ketika lama pencelupan pada air *thawing* yang pendek. Tetapi melakukan *thawing* pada temperatur tinggi adalah sukar untuk petugas yang tidak berpengalaman (Robbin, *et al.*, 1972 yang disitir oleh Sahni dan Mohan, 1988).

Hafs dan Elliot (1954), *thawing* pada air bersuhu 38⁰C sampai 40⁰C menghasilkan daya tahan hidup sperma yang lebih baik bila dibandingkan dengan pada suhu yang rendah. Sebaliknya Van Demark *et al*, (1957), menyatakan bahwa *thawing* pada suhu 5⁰C menghasilkan pergerakan yang lebih baik bila dibandingkan dengan *thawing* pada suhu 38⁰C.

Pengujian langsung terhadap fertilitas hewan betina yang diinseminasi dengan semen beku sesudah *thawing* memakai berbagai media adalah cara terbaik untuk menentukan metode *thawing*. Toelihere (1981), membandingkan pengaruh *thawing* pada suhu 30⁰C dengan 15⁰C, dan 15⁰C dengan 4⁰C menemukan bahwa *thawing* pada suhu 15⁰C menunjukkan prosentase *non return* 60 – 90 hari jauh lebih tinggi daripada *thawing* pada suhu 30⁰C, sedangkan *thawing* pada suhu 4⁰C adalah lebih baik daripada *thawing* pada 15⁰C.

2.8 Uji Kualitas Semen

2.8.1 Motilitas Spermatozoa

Motilitas umumnya digunakan sebagai parameter kesanggupan membuahi (Torlihere, 1985). Penilaian secara visual terhadap motilitas merupakan penilaian yang subyektik. Perkiraan secara visual dipengaruhi oleh konsentrasi semen, kecuali pada semen yang ditambah bahan pengencer lain (Partodihardjo, 1992).

Energi yang digunakan untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan ATP di dalam selubung mitochondria melalui reaksi-reaksi penguraianya menjadi ADP (*adenosin diphophat*) dan AMP (*adenosin monophosphat*). Energi yang dihasilkan ini akan dipakai sebagai pergerakan (energi mekanik) atau sebagai biosintesis (energi kimiawi). Dalam semen terdapat empat bahan organik yang dapat dipakai secara langsung maupun tidak langsung oleh spermatozoa sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Bahan-bahan tersebut adalah fruktosa, serbitol, GPC (*glycerylphosphorylcholine*) dan plasmalogen (Toelihere, 1993).

Penilaian semen berdasarkan penilaian motilitas massa dapat ditentukan sebagai berikut :

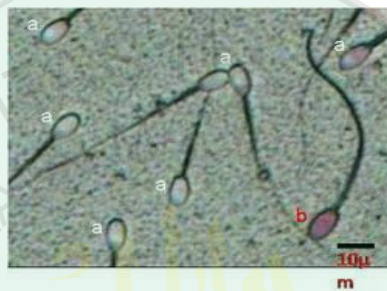
1. Sangat baik (+++), jika terlihat adanya gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif gumpalan awan hitam dekat waktu hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat.
2. Baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.
3. Lumayan (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individu aktif progresif.
4. Buruk (0), bila hanya sedikit atau ada gerakan-gerakan individual.

Penilaian gerakan individual spermatozoa menggunakan mikroskop dan melihat pola pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan merupakan gerakan terbaik. Gerakan melingkar atau gerakan mundur merupakan tanda *cold shock* atau media yang kurang isotonik terhadap semen. Gerakan berayun dan berputar-putar di tempat biasanya terlihat pada semen yang sudah tua dan apabila kebanyakan spermatozoa berhenti bergerak dan dianggap mati. Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh kemampuan metabolisme spermatozoa yang ditunjang oleh lingkungan yaitu suhu dan komponen-komponen yang terdapat di dalam medium (Toelihere, 1993).

2.8.2 Viabilitas Spematozoa

Persentase spermatozoa hidup tinggi serta gerak progresif dan kuat merupakan tanda semen berkualitas baik. Persentase spermatozoa hidup dan mati

dapat ditentukan melalui cara pewarnaan. Perbedaan penyerapan zat warna antara sel-sel spermatozoa mati dan hidup dapat digunakan menghitung secara obyektif jumlah spermatozoa hidup atau mati, sewaktu semen dicampur dengan zat warna, maka spermatozoa hidup (viabil) tidak akan menyerap warna karena membrannya masih bagus. (Suyadi, 1992).



Gambar 2.2

- a. Spermatozo hidup (transparan)
- b. Spermatozoa mati (menyerap warna)

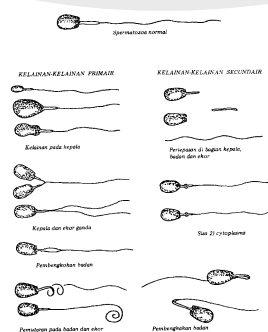
Spermatozoa yang motil dan hidup tidak berwarna. (Suyadi dan Susilawati, 1992) menambahkan bahwa kadang-kadang spermatozoa masih hidup akan mengambil warna sebagian dari ekor sampai setengah badan. Pengambilan zat warna oleh spermatozoa juga dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor lain seperti sekresi kelenjar aksesoris, pH, suhu, kesalahan teknik pada waktu pembuatan preparat dan umur semen sesudah pengambilan semen. Vasicula memungkinkan keluar masuknya cairan sel sperma.

2.8.3 Abnormalitas Spermatozoa

Robert (1971) dalam Toelihere (1993) menjelaskan bahwa kelainan bentuk dapat dilihat pada kepala, badan dan ekor spermatozoa. Beberapa peneliti mengklasifikasikan kelainan-kelainan tersebut ke dalam dua kelompok yaitu

abnormalitas primer dan sekunder. Bentuk-bentuk abnormalitas primer terjadi karena kelainan-kelainan pada tubuli seminiferi dan gangguan testikuler. Abnormalitas primer ditandai oleh kepala yang terlalu kecil (*microcephalic*) atau terlalu besar (*macrocephalic*); kepala yang lebar, memanjang, berganda dan berbentuk seperti buah per (*pyriformis*); badan atau ekor berganda; pembesaran bagian tengah yang melingkar dan pertautan abaksial.

Abnormalitas sekunder terjadi setelah sel atau bakal sel kelamin jantan meninggalkan epitel kecambah pada tubuli seminiferi, selama perjalanannya melalui saluran epididimis dan vas deferens, selama ejakulasi dan perjalanannya melalui uretra atau manipulasi terhadap ejakulat termasuk agitasi dan pemanasan yang berlebihan, pendinginan yang terlalu cepat, karena kontaminasi dengan air, urine atau antiseptik dan sebagainya (Toelihere, 1993). Abnormalitas sekunder disebabkan gangguan setelah spermatozoa meninggalkan tubuli seminiferus, misalnya; gangguan pada proses pematangan, gangguan resorpsi, sekresi yang abnormal dari kelenjar assesoris, gangguan mekanis, temperatur shock. Bentuk sekunder misalnya : kepala bentuk normal tapi tanpa bagian tengah atau ekor, kepala tanpa akrosom, pembengkakan pada bagian tengah atau ekor yang ringan (Susilawati, 1992).



Gambar 2.3
Spermatozoa Abnormal Primer dan sekunder (Lindsay.1982)

2.8.4 Integritas Membran

Spermatozoa dapat diuji secara morfologis dengan menggunakan pengencer untuk melihat kelainan bentuk, kerusakan kepala atau ekor spermatozoa, juga untuk melihat proporsi sel yang mati dengan suatu metode tertentu agar spermatozoa yang mengalami kerusakan membran dapat menyerap suatu media tertentu (Hunter, 1982). Toelihere (1993) menambahkan bahwa spermatozoa adalah selaput yang bersifat semipermeabel. Cairan yang bersifat hipertonik dan hipotonik akan mengubah perpindahan cairan melalui selaput. Gangguan terhadap integritas sel hanya dapat terjadi pada penggunaan pengencer yang bersifat isotonik. Motilitas spermatozoa menjadi panjang ketika dilarutkan pada media isotonik.

Spermatozoa tidak mampu memperbaiki kerusakan membran sehingga membran sel harus dijaga agar tetap utuh. Evaluasi integritas membran umumnya menggunakan larutan *Hypo-Osmotic Swelling* (HOS Test) untuk membedakan selaput yang utuh dan yang mengalami kerusakan sel (Dass, 1992). Hypoosmotic swelling test mulai diperkenalkan pada tahun 1963 oleh Drevius yang menemukan bahwa spermatozoa yang terpapar pada medium hipoosmotik akan mengalami pembengkokan ekor sehingga seperti spiral. Pembengkokan ini adalah akibat gangguan kontraksi-relaksasi ekor karena adanya aliran ion atau bahan yang berat molekulnya rendah dari ekor ke medium hipoosmotik tersebut. Penelitian ini dilakukannya terhadap spermatozoa sapi dengan menggunakan larutan ringer 20% (Jeyendran dan Zaneveld, 1986).

Jeyendran dan Zaneveld (1986) meneliti hal ini dengan menggunakan larutan hipoosmotik yang terbuat dari 100 ml aquades berisi 2,7 g fruktosa ($C_6H_{12}O_6$) dan 100 ml aquades yang berisi 1,47 sodium sitrat bihidrat ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$). Mereka melakukannya terhadap spermatozoa manusia, dan hasilnya juga demikian.

Jeyendran dan Zaneveld berpendapat bahwa spermatozoa dengan membran plasma yang utuh dan fungsional akan bertambah volumenya jika terpapar pada suatu medium hipoosmotik. Medium akan menggunakan tekanan osmotik yang cukup besar untuk mengakibatkan terjadinya aliran air masuk ke dalam spermatozoa sehingga menjadi bengkak.



Gambar 2.4

- a. Spermatozoa baik (mengalami pembengkokan ekor)
- b. Spermatozoa jelek (ekor tetap lurus)

Dasar metode HOS Test adalah hukum osmosis. Bila spermatozoa terpapar pada medium hipoosmotik, maka air akan mengalir ke dalam spermatozoa sampai tercapai keseimbangan osmotik antara larutan di dalam dan larutan di luar spermatozoa, sehingga spermatozoa bengkak. Kebengkakan ini berupa pembengkokan yang mudah dilihat. Peristiwa osmosis pada spermatozoa ini dapat terjadi karena membran plasmanya bersifat semipermeabel dan berfungsi normal.

Jadi spermatozoa yang terpapar pada mediuma hipoosmotik dan memperlihatkan pembengkokan ekor adalah spermatozoa yang normal.

Ketidak stabilan membran dan konsentrasi ion intraseluler akan mempengaruhi integritas membran. Fosfolipid merupakan bagian integral membran yang berperan dalam permeabel membran, reaksi enzim yang terdapat pada membran dan perubahan spermatozoa pada saluran reproduksi betina yaitu dalam proses kapasitas dan fertilisasi (Yudhaningsih, 2004).

